Aus der Chirurgischen Universitätsklinik in Marburg
Direktor: Prof. Dr. med. M. Schwaiger

Die Wirkung der Splenektomie auf die Thioacetamid-Lebercirrhose der Ratte und ihre Erfassung durch den Thymol-Trübungstest

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin
der hohen Medizinischen Fakultät
der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

Christa Weiß geb. Plagemann
aus Bad Elster

Marburg 1969

Fotodruck: Erich Mauersberger, Marburg

Aus der Chirurgischen Universitätsklinik in Marburg
Direktor: Prof. Dr. med. M. Schwaiger

Die Wirkung der Splenektomie auf die Thioacetamid-Lebercirrhose der Ratte und ihre Erfassung durch den Thymol-Trübungstest

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin
der hohen Medizinischen Fakultät
der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

Christa Weiß geb. Plagemann
aus Bad Elster

Marburg 1969

Fotodruck: Erich Mauersberger, Marburg

Angenommen von der Medizinischen Fakultät der Universität Marburg am: 8.12.1969
gedruckt mit der Genehmigung der Fakultät

Dekan: Prof. Dr. rer. nat. P. Karlson
Referent: Prof. Dr. med. H.-J. Streicher
Correferent: Prof. Dr. med. M. Siess

UNIV. LEIDEN BIBL.

Inhaltsverzeichnis

		Seite
I	Einleitung	3
II	Hauptteil	18
	a) Fragestellung	18
	b) Methodik	20
	c) Technik des T-TT	20
	d) Versuche	22
	e) Meßergebnisse des T-TT in Extinctionen	26
	f) Meßergebnisse der Gewichte in Gramm	28
	g) Meßergebnisse des T-TT nach 20 Wochen	30
	h) Auswertung der Kurven des T-TT	32
	i) Auswertung der Gewichtskurven	34
	j) Statistische Auswertung	36
	k) Histologische Ergebnisse	38
III	Vergleichende Betrachtung der experimentellen Ergebnisse	39
IV	Zusammenfassung	41
	Literaturverzeichnis	43

In der Arbeit vorkommende Abkürzungen

T-TT = Thymol-Trübungstest
ME = Maclagan-Einheiten
Z = Zufallsgrenze
Q = Quotient zur Signifikanzprüfung zweier Mittelwerte
n = Anzahl der Versuchstiere einer Gruppe
σ = Streuung eines Kollektives
α = Durchschnitt

I Einleitung

Die Leber ist mit 12-1500 g das größte drüsige Organ des menschlichen Körpers.60% ihres Gewichtes bildet das Leberparenchym, 40 % entfallen auf mesenchymale Bestandteile.Sowohl im äußeren,makroskopischen,als auch im inneren,histologischen Aufbau unterscheidet sich die Leber in vielen Beziehungen von den übrigen Körperzellen und Organen,entsprechend den vielerlei Funktionen und Aufgaben,die sie zu bewältigen hat.
Die drei Hauptaufgabengebiete der Leber,Intermediärstoffwechsel,Excretion,Speicherung,lassen sich im einzelnen in Untergruppen aufteilen,die auf die Bedeutung dieses wichtigen Organs spezifischer hinweisen: Sie ist ein großes Blutreservoir,das bei plötzlichem Nachlassen der Herzkraft den Druck abfangen kann,sie wirkt ausgleichend im Wasser-und Elektrolytstoffwechsel;sie bewältigt aber besonders biochemische Aufgaben,die für die Funktionsfähigkeit des menschlichen Organismus von großer Wichtigkeit sind (anabole,katabole,sekretorische Funktionen;Speicher für Glykogen,Eiweiß,Fette, Vitamine;Bildung aller Serumproteine bis auf Gammaglobuline; Kohlehydratstoffwechsel,Bilirubinstoffwechsel,Enzymsynthese; Entgiftung toxischer Produkte,die im Intermediärstoffwechsel entstehen oder im Darm resorbiert werden; sie produziert ca. 15 % der gesamten Energie des menschlichen Körpers).Die Leber besitzt außerdem eine große funktionelle Reserve. Im Tierexperiment kann man bis zu 80 % des Lebergewebes resezieren, ohne daß es zu lebensbedrohlichen Ausfällen kommt (5).
Aus der Vielzahl der Leistungen der Leber läßt sich auch unschwer auf die Schwierigkeit bei der Diagnostik eines partiellen Ausfalls der Leberfunktionen schließen. Die Leberdiagnostik,die erst durch die Laparaskopie,Leberbiopsie,Leberszinthigraphie und nicht zuletzt durch die Enzymdiagnostik in den letzten Jahrzehnten einen entscheidenden Fortschritt gemacht hat,suchte bis dahin durch die verschiedenartigsten Teste und Laboratoriumsnachweise zu einer möglichst raschen und genauen Klärung der Leberfunktionsstörungen zu kommen.

Bei diffusen Leberparenchymschäden lassen sich die Störungen auf den Gebieten des Eiweißstoffwechsels u.a.mit Hilfe der BSG,der Serumelektrophorese und der Labilitätsreaktionen,die

das veränderte Albumin-Globulin-Verhältnis anzeigen,wie z.B. die Zinksulfat-Trübungsreaktion (Kunkel),die Cephalin-Cholesterol-Flockungsreaktion (Hanger),die Thymol-Trübungsreaktion (Maclagan),die Takata-Reaktion und das Weltmann'sche Koagulationsband erfassen. Störungen der Eiweißsynthese lassen sich weiter durch Bestimmung der Gerinnungsfaktoren ermitteln. Zur Prüfung der Kohlehydrat-Stoffwechselfunktionen dient z.B. der Galaktose-Test. Rückgang der Cholesterinester,Anstieg der Transaminasen und des Serumeisens geben Auskunft über die Schwere eines Leberparenchymschadens. Die Bestimmung von Bilirubin im Serum,Urobilinogen im Urin,Messung der alkalischen Phosphatase,sowie der Kollertest können Hinweise auf Lebererkrankungen mit Verschlußsyndrom geben. Die Bromsulphaleinprobe ist zwar leberspezifisch,fällt aber auch bei gestörtem Galleabfluß pathologisch aus.

Bei der Diagnosestellung kommt oft erschwerend hinzu,daß ein Großteil der Leberfunktionen auch von anderen Organen ausgeführt werden kann (d.h. die Proben sind meist nicht leberspezifisch),daß die Leber über eine große Regenerationsfähigkeit verfügt und daß auch noch weiterhin eine gegenseitige Beeinflußung von Leber z.B. mit Milz oder RES und anderen Organen der Klärung gegenübersteht (5,53).

So demonstriert Zenker (53) an einigen Fällen,wie wichtig heute die Korrelationsdiagnostik geworden ist. Er unterscheidet dabei die Funktionsdiagnostik und die Lokalisationsdiagnostik z.B. bei Leber und Milz.Ganz besonders weist er dabei auf die Leistungsfähigkeit der Laparaskopie und der Spleno-Porto-Hepatographie hin,die für den Patienten wenig belastend und in der Hand des Erfahrenen relativ gefahrlos sind.

Bis heute sind auf der Suche nach der richtigen Methode zur endgültigen Klärung einer bestimmten Lebererkrankung über 500 Leberteste und ihre Modifikationen entwickelt worden (44). In den USA und vielen anderen Ländern ist man daher in den Kliniken dazu übergegangen,sog. Testbatterien zusammenzustellen,um auf diese Weise durch Masseneinsatz eine Diagnose zu erzwingen.Gleichzeitig wächst aber auch die Anzahl falsch positiver Befunde.

Durch Laparaskopie,Biopsie,Enzymdiagnostik usw,sind in den Augen vieler Autoren (5) derartig entscheidende Fortschritte gemacht worden,daß viele der bis in die letzten Jahre üblichen Leberteste,wie z.B. einige der Serumlabilitätsreaktionen in manchen Krankenhäusern als überflüssig angesehen werden.Da aber für die ambulante Untersuchung und für die Routinelaboratorien die neueren Teste und Untersuchungen zu umständlich und zu teuer in der Durchführung sind,und die Labilitätsreaktionen auf Grund ihres geringen Aufwandes für jeden Behandler durchführbar sind,hat man sie doch noch nicht verlassen.

Die Leber ist,wie schon erwähnt,das Zentralorgan für die Bluteiweißkörper.Sie stellt in der anabolen Phase Vorstufen zur Eiweißbildung auf,und speichert sie.Im katabolen Vorgang spaltet sie Proteine zu Aminosäuren und ist bei der Desaminierung beteiligt.Dabei bildet die Leber den Hauptteil des Harnstoffes,der im Krebs-Henseleit-Zyklus entsteht (5).

Besonders wichtig im Hiblick auf die Labilitätsteste ist hierbei,daß die Leber Plasmaproteine bildet (Albumin,Prothrombin,Fibrinogen,Faktor V,VII,IX,X).Allerdings wird die Gamma-Globulinfraktion,die bei chronischem Leberschaden besonders stark ansteigt,extrahepatisch gebildet,wahrscheinlich im RES (z.B.Plasmazellen,Kupffer-Sternzellen). Diese Steigerung bei Leberschädigung wird teils immunologisch (z.B. Bildung der Antikörper),teils mi Umleitung der Aminosäuren erklärt (5)

Seit Anfang des Jahrhunderts das Interesse der Kliniker auf die Veränderung der Serumeiweißkörper bei Leberparenchymschäden hingezielt hat,ist eine große Anzahl von Serumlabilitätsproben in der Zeit von 1917 bis 1947 zur Diagnose und besonders zur Verlaufskontrolle von Lebererkrankungen entwickelt worden.Sie sind leicht durchführbar und geben nach Ansicht der Autoren relativ genaue diagnostische und differentialdiagnostische Auskünfte.

Blut,Plasma und Serum stellen auf Grund ihres hohen Eiweißgehaltes komplizierte kolloiddisperse Systeme dar, deren Stabilität überprüft werden kann.Jede Dys-und Paraproteinämie hat eine Änderung der Kolloidstabilität zur

Folge,die durch eiweißfällende Einflüsse überprüft werden kann.Nach Heepe (31) existieren über 200 Labilitätsproben. Die gebräuchlichsten davon sind:

Das Koagulationsband nach Weltmann,die Formol-Gel-Reaktion,die Sia-Probe,der Cephalin-Cholesterol-Flockungstest,die Takata-Reaktion in der Modifikation nach Mancke und Sommer,die Kadmiumsulfat-Reaktion nach Wunderly und Wuhrmann,die Gros'sche Probe,die Zinksulfatreaktion nach Kunkel und die Thymolreaktion nach Maclagan,die in der Modifikation nach "Reinhold" und "Wachter,Gabl" existiert.

Allen Proben gemeinsam ist das Ansprechen auf Veränderungen in bestimmten Abschnitten des Serum-Protein-Spektrums (31) Sie erfassen die gestörte Kolloidstabilität in einem willkürlich gewählten Reaktionsmilieu (18).So geben sie also positive Resultate bei den verschiedensten Krankheiten, deren einziger gemeinsamer Faktor ein gestörtes Verhältnis der Eiweißfraktionen untereinander zu sein braucht. Entweder handelt es sich dabei um Verschiebungen des Albumin-Globulin-Anteils,wie z.B. bei Parenchymschäden der Leber, Gamma-Plasmocytom,Lipoidnephrose usw, oder um qualitative Veränderungen innerhalb der einzelnen Fraktionen.

Die meisten der Proben beruhen auf dem Prinzip der Serumverdünnung mit destilliertem Wasser oder mit Wasser von besonders niedrigem Elektrolyt-Gehalt und einem pH von 7,5 bis 7,8. Unter diesen Bedingungen sind die einzelnen Gamma-Globulin-Komponenten nahe ihrem isoelektrischen Punkt und fallen aus.Dieses Phänomen als Nachweismethode auszunutzen gelang Brahmachari 1917 als Erstem. Er verdünnte normales Serum von Kala-Azar-Patienten mit destilliertem Wasser und bemerkte eine starke Trübung,während Serum von gesunden Probanden,verdünnt mit destilliertem Wasser nur eine ganz geringe Trübung ergab.Sia und Wu wiesen 1921 nach,daß es sich bei diesem Präzipitat um Globuline handelte. Henry glaubte 1928,Antikörper gegen Malaria-Melanin gefunden zu haben,als er eine Ausflockung von mit Melanin-Suspension versetztem Serum beobachtete. Aber Trensz 1932,Greig et al. 1934 und Wisemann 1934 zeigten,daß das Melanin nur dazu diente,die feine Präzipitation des Globulin deutlicher

sichtbar zu machen;es war also nur als Indikator zu betrachten.Nachdem Prudhomme et al. nachgewiesen hatten,daß kolloidale Teilchen von Melanin eine negative Ladung tragen,untersuchten Cabello und Miquel eine Serie von Kolloiden und fanden dabei,daß jedes Kolloid mit negativer Ladung als Indikator benutzt werden kann,gleichgültig ob lyophil oder lyophob. Die gebräuchlichsten Indikatoren sind Farbstoffe,Schwermetalle,Lipoide,Salze,Säuren. Die Flockung ist dann abhängig von der Kolloid-,Serum- und Elektrolyt-Konzentration,dem pH und der Anwesenheit von Phenolen (7).

Nach dem Prinzip der Serum-Verdünnung mit destilliertem Wasser und Elektrolyt-Zusatz arbeitet die Weltmann´sche Reaktion. Fünfzigfach mit destilliertem Wasser verdünntes Serum zeigt unter Zusatz von Calcium-Chlorid-Lösung bei Erhitzen eine Koagulation. Das sogenannte Koagulationsband gibt Aussagen über alle Globulinfraktionen und darin liegt auch sein Nachteil. Bei Gamma-Globulin-Vermehrung ist das Band gewöhnlich verbreitert,bei Alpha-Globulin-Zunahme verkürzt.Eine stumme Reaktion kann resultieren,wenn beide Anteile vermehrt sind (31).

Als Zweites gehört hierher die Formol-Gel-Probe nach Gaté und Papacostas. Als Sol vorliegende Eiweiß-Substanzen im Blut-Serum werden durch Formaldehyd oder in einer Modifikation durch Formalin-Calcium-Chlorid in den Gelzustand überführt.--Normal ist,wenn die Gelbildung nach mehr als acht bis zehn Minuten auftritt. Es handelt sich um eine ausgesprochene Gamma-Globulin-Reaktion,deren positiver Ausfall durch gleichzeitige Albumin-Verminderung verstärkt wird.Die Reaktion ist häufig positiv bei Kala-Azar,Gamma-Plasmocytom und einigen Retikulosen (31).

Die Sia-Probe,die noch in diese Reihe gehört,ist weder spezifisch noch empfindlich;sie kann aber als erste orientierende Prüfung bei Verdacht auf Makroglobulinämie angewendet werden. Man läßt in ein mit Aqua bidest. gefülltes Reagenz-Glas ein bis zwei Tropfen Probanden-Serum hineinfallen.Bei Anwesenheit von Paraproteinen in höherer Konzentration trübt sich der Serum-Tropfen während des Niedersinkens (31).

Der Cephalin-Cholesterol-Test kann unter den bisher besprochenen Testen als der empfindlichste gelten. Serum wird mit Natrium-Chlorid und Cephalin-Reagenz versetzt.Bei hohem Gamma-Globulin-Gehalt des Serums kommt es zu mehr oder minder starker Ausflockung.Dieser Test ist schon früh in den Anfangsstadien einer Leberschädigung positiv.Nachteilig ist aber nach Ansicht vieler Autoren (zit.7) die starke Lichtempfindlichkeit,der häufig unterschiedliche Ausfall,auch wenn unter gleichen Bedingungen gearbeitet wurde und die unspezifischen Reaktionsausfälle bei anderen mit Gamma-Globulinvermehrung einhergehenden Krankheiten (31).

Eine andere Gruppe von Nachweismethoden beruht auf einer Ausfällung durch Schwermetalle. Hierher gehört die Takata-Reaktion,am meisten gebraucht in der Modifikation nach Mancke und Sommer.Konstante Serum-Mengen werden mit abgestuften Sublimat-Konzentrationen versetzt.Man bestimmt die Sublimat-Konzentration desjenigen Röhrchens,in dem eben noch flockiger Bodensatz wahrnehmbar ist. Besonders bei Gamma-Globulin-Vermehrung ist diese Reaktion positiv. Nachteilig ist,daß bei gleichzeitig stärkerer Erhöhung der Alpha-2-Globuline die Gamma-Globulin-Ausflockung gehemmt ist;außerdem ist die Reaktion sehr temperaturabhängig. Kälte führt zu stärkerem Reaktionsausfall.Positive Ausfälle sind hauptsächlich bei chronischen Leber-und Nierenerkrankungen und bei Lungen-Tuberculose zu finden.
Bei der orientierenden Probe nach Gross wird zu Nativserum Hayemsche Lösung getropft. Dabei kommt es zu einer sog. ersten Flockung,die sich beim Schütteln zunächst wieder löst und erst bei weiterem Zusatz von Hayemscher Lösung irreversibel wird. Als Normalwert gilt ein Verbrauch von 2 ml Hayemscher Lösung und darüber (15).
Hinsichtlich der Ausfallsbreite besteht eine gewisse Parallelität der Cadmium-Sulfat Reaktion zur Takata-Reaktion. Serum wird mit Cadmium-Reagens gemischt und nach einigen Minuten der Trübungsgrad abgelesen.Die Trübung wird hauptsächlich durch Gamma-Globuline verursacht,aber auch gering beeinflußt durch alpha-und beta-2-Globuline,deshalb ist die klinische Eignung als Leberfunktionsprobe umstritten (31).

Die Zinksulfat-Reaktion nach Kunkel fällt in der Regel nur bei Gamma-Globulin-Vermehrung positiv aus.Sie geht dem quantitativen Gamma-Globulin-Gehalt annähernd parallel.Sie wird deshalb zur Differentialdiagnose des Icterus herangezogen.Beim Verschlußicterus ist sie negativ und in dieser Hinsicht zuverlässiger als die Thymolreaktion.Eine gegenüber der Norm verminderte Zinksulfat-Trübung deutet auf Hypo-Gamma-Globulinämie,eine fehlende auf A-Gamma-Globulinämie (31).

Die bisher genannten Teste beruhen alle auf einer direkten Reaktion zwischen Serum und einem vorgeformten Kolloid.Es gibt aber auch Nachweismethoden,wobei erst ein lyophobes Kolloid aus dem Serum abgespalten wird,das erst sekundär eine kolloidale Lösung bildet und dann durch Serumproteine ausgeflockt wird.Diese Fähigkeit,Lipoide aus Lipoproteiden freizusetzen,kommt verschiedenen Phenolen zu.Wenn das freigesetzte Lipoid eine kolloidale Lösung gebildet hat,kann es durch Globuline ausgeflockt werden.Der erste dieser Teste war Vernes-Resorcinol-Reaktion.Serum wurde mit dem gleichen Volumen destillierten Wassers verdünnt,das Resorcinol in einer Konzentration von 1,25 % enthielt. Vernes glaubte aus dem plötzlichen positiven Ausfall dieser Probe,eine Tbc diagnostizieren zu können (7).Das Präzipitat besteht hauptsächlich aus schnell wandernden Gamma-Globulinen,einer Spur von Albuminen und Beta-Globulinen und einigen Lipoiden. Der heute best-bekannte Test dieser Art ist Maclagans Thymol-Trübungstest.

Alle diese Serumlabilitätsreaktionen führten in den letzten Jahrzehnten zu zahlreichen sich widersprechenden Erfahrungen und Urteilen (25).So gibt Oppermann (25) den klinischen Untersuchungsmethoden in der Praxis den Vorzug wegen der Vieldeutigkeit und des häufigen Versagens der Labilitätsreaktionen.Als relativ empfindlich betrachtet er höchstens den Thymoltest,der auch weitgehend mit dem Weltmannschen Koagulationsband parallel geht und eventuell stumme Koagulationsbänder aufdecken kann.In einer anderen Arbeit (26) bescheinigt er den Labilitätsreaktionen auch bei gleichzeitiger Durchführung mehrerer Reaktionen überraschend und

enttäuschend eintöniges Verhalten,da es sich nur um unspezifische Globulinreaktionen handele.Außerdem bestehe keine regelmäßige Proportionalität zwischen Intensität der Labilitätsproben und des Leberparenchymschadens.
Nach Lindner (18) haben die Serumlabilitätsreaktionen heute stark an Bedeutung verloren,da sie unspezifisch und also keine Leberfunktionsproben sind.Ein positiver Ausfall weist nur auf ein gestörtes Gleichgewicht der verschiedenen Proteinfraktionen des Serums hin.An die Stelle der Labilitätsproben seien heute in der Klinik die Papierelektrophorese,die Bestimmung des Gesamteiweißes im Serum,der verhältnismäßig leberspezifische Bromthaleintest und die Enzymdiagnostik getreten.Da in den meisten internistischen Fachpraxen die technischen und personellen Voraussetzungen zur Durchführung dieser Teste fehlen,könnten dort die Serumlabilitätsreaktionen als Suchtest und Verlaufskontrolle noch durchgeführt werden,sollten aber auf höchstens zwei Flockungsteste eingeschränkt werden.
Als völlig unspezifisch und unbrauchbar verwirft der Autor die Gros´sche Probe,den Kadmium-Sulfat-Test und die Formol-Gel-Probe.Der Takata-Reaktion bescheinigt er gute Korrelation zum Gamma-Globulin-Gehalt,allerdings nur,wenn andere Eiweißfraktionen nicht vermehrt sind;besonders alpha-2-Globuline, die den Gamma-Globulin-Einfluß auf die Reaktion hemmen und zu einer Pseudo-Normalisierung der Takata-Reaktion führen können.Nachteilig sei die Temperatur-Abhängigkeit und die Unbrauchbarkeit als Suchtest,da die Reaktion auch unmotiviert pathologisch oder normal ausfallen kann.
Das Weltmann´sche Koagulationsband ist seiner Ansicht nach unübersichtlich.Ein Normalwert besage nicht,daß keine wesentliche Dysproteinämie besteht.Im Gegenteil sei sogar bei einer erheblichen Zahl schwerer Veränderungen des Serum-Eiweißspiegels das nicht verschobene,stumme Weltmann-Band zu beobachten.
Die technisch leicht auszuführende Zinksulfat-Probe sei uncharakteristisch und nur als rein orientierende Methode brauchbar.
Auch die Bedeutung des Thymol-Trübungstestes sei durch die

Serum-Enzym-Untersuchungsmethoden wesentlich gemindert.Als Suchreaktion leiste er jedoch weiterhin gute Dienste.
Nach Ansicht von Mateer (21) sollte man die beiden empfindlichsten Labilitätsreaktionen,den Cephalin-Cholesterol-Test und den Thymol-Trübungstest heranziehen,als Suchteste zur Diagnose früher Lebererkrankungen,und zur Verlaufskontrolle bei akuter wie chronischer Hepatitis und Leberzirrhose.Dagegen sind sie unbrauchbar bei der Differentialdiagnose zwischen obstruktivem und hepatozellulärem Ikterus,sowie bei metastatischem Leber-Karzinom.
Einige Autoren sind aber auch heute noch von der Wichtigkeit und Nützlichkeit der Serum-Labilitätsreaktionen überzeugt.
So meinen Wachter und Gabl (51),daß die Labilitätsproben mit Recht ihren Platz in der Laboratoriumsdiagnostik behaupten, da bei ihnen als Fällungs-und Trübungsreaktionen grundsätzlich andere Eigenschaften der Serum-Eiweiß-Körper und andere Faktoren eine Rolle spielen als bei der Papier-Elektrophorese. Denn es können auch qualitative Veränderungen der Eiweißkörper und des Milieus,oder auch in der Elektrophorese nicht zum Ausdruck kommende Minimal-Fraktionen einen relativ großen Einfluß auf das Ergebnis haben.
Nach V.Tilsner (46) ist die routinemäßige Durchführung der Papierelektrophorese zu zeitraubend und aufwendig,und deshalb seien für die Praxis die Labilitätsproben weiterhin notwendig.
Nach G.Berg (3) sind die Labilitätsreaktionen differentialdiagnostisch zwar nur mit Einschränkungen verwertbar,für die charakteristischen Blut-Eiweiß-Verschiebungen bei Lebererkrankungen bilden sie aber ein zuverlässiges Maß,besonders bei Zunahme der Beta-und Gamma-Globulin-Fraktionen.Je größer die elektrophoretische Beweglichkeit,desto eher wird das Weltmann`sche Koagulationsband verkürzt gefunden und die Thymolprobe wird positiv.Bei Myelomen mit einem hohen Gradienten im Gamma-Globulinbereich,fällt dagegen die Takata-Reaktion positiv aus.
Diese unterschiedlichen Meinungen über den Wert der verschiedenen Serum-Labilitätsreaktionen führten teilweise zu ihrer Ablehnung durch viele Kliniker.

Ganz besonders gilt dies für den Thymol-Trübungstest (T-TT), der im Jahre 1944 von Maclagan (19) angegeben wurde.Er fand in den Laboratorien auf Grund seiner Störanfälligkeit,beruhend auf dem physikalischen Reaktionsmechanismus,nur zögernd Eingang.Er findet speziell Verwendung zur Differentialdiagnose zwischen Parenchym-und Verschlußicterus und zur Verlaufskontrolle von verschiedenen Hepatitiden.Seit dieser Zeit gilt er als der relativ empfindlichste Labilitätstest in der Leberdiagnostik.Sein positiver Ausfall hängt mit der Vermehrung der Lipoproteine zusammen (31).Daher sind Zunahme der Beta-Globuline meist von einem positiven T-TT begleitet.Schon die Verdauungslipämie hat bei einem Gesunden einen flüchtigen positiven Reaktionsausfall zur Folge.

Maclagan schließt aus dem Ausbleiben der Trübung bei Zusatz elektrophoretisch isolierter Alpha-und Beta-Globuline,daß Gamma-Globuline für die positive **Trübung** Ursache sind. Es soll sich dabei um ein Thymol-Phosphor-Lipoid-Globulin-Gemisch handeln (zit. 26).Er betrachtet die Thymol-Pufferlösung als gesättigte echte Thymol-Lösung und gibt die Löslichkeit des Thymols mit 0,11 g% an (51).

A.Mayr und R. Baldt (22) halten Thymol für eine kolloidale Lösung.Bei Zusatz zum Serum findet eine Kolloid-Kolloid-Reaktion statt und das Eiweiß-Sol wird in seinen Gel-Zustand überführt.Infolge dieses Reaktionsmechanismus besteht starke Abhängigkeit der Trübungsintensität vom pH-Wert,von der Salzkonzentration des Puffers,von der Thymolkonzentration und der Struktur des Reagenses und der Temperatur.

F.Heepe (zit.51) zählt den T-TT allerdings zu den Phenol-Reaktionen und läßt ihn bei der Gruppe der eigentlichen Kolloid-Kolloid-Reaktionen unerwähnt.

Ebenso reiht Discombe (7) den T-TT nicht bei den eigentlichen Kolloid-Kolloid-Reaktionen ein,sondern betrachtet diese Reaktion erst sekundär als solche.Er macht das Thymol für die Abspaltung von Lipoiden aus Lipoproteiden verantwortlich.Die auf diese Weise gebildete kolloidale Lipoid-Lösung soll dann sekundär unter Reaktion mit den Gamma-Globulinen zur Trübung führen.

Nach Überlegungen von Wachter und Gabl (51) bei der Herstellung des Reagenses,muß es sich um ein Kondensations-Dispersions-Kolloid handeln.Dafür sprechen die Kolloidalterung, d.h. die mit dem Alter zunehmende Trübung des Reagenses,die Oberflächenaktivität,die Aussalzbarkeit,die pH-Abhängigkeit und das positive Tyndall-Phänomen.Demnach ist der Maclagan-Test eine Kolloid-Kolloid-Reaktion im engeren Sinne,d.h.die Reaktionsweise wird mehr durch den physikalisch-chemischen Zustand des Kolloids bestimmt,als durch die Besonderheiten einer chemischen Stoffklasse.

In der Literatur vergangener Jahre stößt man auf die unterschiedlichsten Aussagen über den Wert des T-TT.:

Cohn und Thomson sahen bei Vermehrung der Beta-Fraktion,die besonders reichlich Lipoide mit sich führt,starke Thymol-Trübung (zit.26).

Mateer (21) schreibt 1947,daß der T-TT ein wertvoller Test ist.Er dient besonders bei dem pH von 7,5 zum Sichtbarmachen vorklinischer Fälle.Er ist auch wichtig bei klinischen Fällen von chronischer Hepatitis und Leberzirrhose.

1949 schreibt Oppermann (25),daß nach seinen Erfahrungen mit Seren von 200 Kranken und Gesunden klinisch eine Parallelität des T-TT mit dem Weltmann'schen Koagulationsband besteht.Seren mit verlängertem Koagulationsband sind meist mit Thymol-Trübung und -Flockung verbunden.Da nach Wunderly und Wuhrmann eine Verlängerung des Weltmann-Bandes durch Zunahme der Gamma-Globulin-Fraktion bedingt ist, vermutet Oppermann,daß die'Thymolproteine'in der Gamma-Fraktion wandern.Bei seinen Patienten ist bei Leberparenchymschaden am ehesten der T-TT positv.Er ist nach Oppermanns Erfahrungen der empfindlichste Test.Allerdings ist er auch positiv bei chronischen Infektionskrankheiten wie Sepsis lenta,Malaria,LuesIII usw.Wichtig ist seiner Ansicht nach,die sog.Spätflockung,die bei Hepatitis und Leberzirrhose vorkommen kann.Bei Zirrhose hatte er in 99% einen positivev T-TT und bei Hepatitis in 98%. Allerdings beobachtete er auch Fälle von negativem Test bei schwerer Hepatitis wie schwerer Zirrhose,während leichte Hepatitisfälle mit starken Serumveränderungen einhergingen.

Es besteht also keine regelmäßige Proportionalität zwischen der Intensität des T-TT und dem Grad des Parenchymschadens.
1950 berichtet derselbe Autor (26) in einer weiteren Arbeit über den T-TT,daß die Thymoltrübung bei Hepatitis-Kranken mit nur gering verlängertem Koagulationsband oft relativ stärker ist als bei Leberzirrhose.Er betont ausdrücklich,daß der T-TT nicht leberspezifisch ist,aber auf Grund seines speziellen Mechanismus,geeignet zur Verlaufskontrolle von Hepatitiden sei.Man solle den positiven Test nur dann auf die Leber beziehen,wenn auch klinisch eine Leberschädigung festgestellt ist.Der Test ist ein Indikator einer Teilfunktionsstörung,nämlich des Eiweiß-und Lipoidstoffwechsels.Als Indikator einer reinen Gamma-Globulinvermehrung sei er ungeeignet,durch den Einfluß der elektrophoretisch nicht von den Beta-Globulinen zu trennenden Lipoide.
Thiele und Voegt (45) beschreiben 1955 acht Fälle von Diabetes mellitus,bei denen der T-TT positiv war.Während bei drei Patienten der positive Test durch chronische Entzündung extrahepatischer Genese erklärt werden konnte,--- die chronische Entzündung verursachte einen Anstieg der Alpha- und Gamma-Globuline,die den positiven Test verursachten ---, war bei fünf Patienten,die ebenfalls keinen Leberschaden hatten,der positive Ausfall des Testes nicht zu erklären. Sie glauben daher,daß nicht nur eine Gamma-Globulin-Vermehrung,sondern auch die bei Diabetukern oft vorhandene Lipämie Ursache für einen positiven Ausfall sein kann.

Lindner bescheinigt 1956 (zit.48) dem T-TT einfache Methodik und sehr häufig pathologischen Ausfall bei Leberparenchymschäden.Er hält ihn für den leberspezifischsten Serumlabilitätstest.Er betont jedoch,daß ein negativer Trübungstest einen Leberschaden nicht ausschließt,positiver Ausfall aber zur Annahme einer Leberschädigung berechtigt,bis das Gegenteil bewiesen wird.Nach seinen Untersuchungen (18) ist der T-TT in 80% von akuter Hepatitis,in 68% bei Leberzirrhose und in 52% bei chronischer Hepatitis positiv.Der T-TT besitzt somit eine große Bedeutung als

Suchreaktion für die Hepatitis und für die posthepatitischen chronischen Leberschäden.Bei alkoholischen Leberschäden ist der Test erst im Spätstadium positiv.Wichtig ist,daß der Patient sechs Stunden vor der Blutentnahme nüchtern ist,da die Phospho-Lipoide den Test positiv machen.Er fiel in 8,1% der Fälle falsch positiv aus.
Wachter und Gabl (51) halten den T-TT wegen seiner Einfachheit und objektiven Bewertbarkeit für wertvoll.Er dient besonders zur Diagnostik und Verlaufskontrolle von Leberkrankheiten und als Suchtest für latente Hepatopathien.

Morrison et al (23) stellten 1962 fest,daß besonders bei der anikterisch verlaufenden Hepatitis der T-TT die wichtigste Serum-Labilitätsprobe neben dem Cephalin-Cholesterol-Flockungstest sei.Bei der Laboruntersuchung stellte sich bei einer Epidemie von 120 anikterischen Fällen heraus, daß die Anwendung von zehn sog. Leberfunktionsproben nicht mehr erbrachte als die alleinige Anwendung des T-TT und des Cephalin-Flockungstestes.Dabei war der T-TT in 38% der Fälle positiv,der Cephalin-Test in 51%.
Viranuvatti (47) berichtet 1963 von 200 Patienten mit Leberabsceß und 74 Patienten mit Amöbenhepatitis.Bei 48 von 122 Amöbenabsceß-Patienten und bei 13 von 36 Amöbenhepatitis-Patienten war der T-TT positiv.
Nach G.Berg (3) stellen Serum-Labilitätsreaktionen und Serum-Elektrophorese Standardmethoden der Eiweißanalyse dar. Er fand bei akuter Hepatitis nur in 40% der Fälle eine pathologische Thymoltrübung,bei chronischen Lebererkrankungen dagegen in 90 bis 100%.
1968 berichten Mayr und Baldt (22),daß ihren Erfahrungen nach der T-TT eine der empfindlichsten Serumanalysen und die empfindlichste Serum-Labilitätsreaktion darstellt.Er ist eine wichtige Leberfunktionsprobe und gibt exakte Aussagen über den Verlauf einer Lebererkrankung.
Nach Ansicht von Discombe (7) ist der T-TT nicht besonders empfindlich als Indikator für eine Hepatitis,jedoch kann er gut zwischen ihr und Verschlußikterus unterscheiden. Er hat weiterhin einigen Wert zur Verlaufskontrolle einer Hepatitis.Bei schlecht ernährten Alkoholikern kann der Test

anfänglich negativ sein,um nach ein oder zwei Wochen langer guter Ernährung plötzlich positiv zu werden.Zwar sei der T-TT differentialdiagnostisch bei Lebererkrankungen eine wertvolle Hilfe,versage aber andererseits beim obstruktiven Ikterus,da er nicht feststellen könne,ob eine physikalische Obstruktion oder eine nicht anatomische Abnormität den Galleabfluß behindere.Diese nicht anatomische Abnormität nenne man heute cholangitische Hepatitis und sie ende als biliäre Zirrhose.Bei dieser Zirrhose kann der T-TT sogar negativ sein.Weiterhin sagt er,daß es nicht schwer sei,Patienten zu finden,die nach akuter Hepatitis Zirrhose bekommen haben,und bei denen weder subjektive Besserung im Befinden,noch Normalisierung des T-TT erfolgte.Rückfälle zeige der T-TT besser an als Ersterkrankungen,und es dauere auch länger ehe er zur Norm zurückkehrt.
J.Walther (49) berichtet 1960,daß die beim T-TT auftretende Trübung von Serum zu Serum differiert,und daher auch nicht mit der Lichtrübung übereinstimmen kann.Photometrisch gewonnene Maclagan-Einheiten (ME) sind somit keine exakten Meßeinheiten,sondern ihr Wert liegt in der Verlaufsbeobachtung eines Patienten.Die mit den verschiedenen Photometern gemessenen ME sind nicht vergleichbar.Sie stellen nur Anhaltspunkte beim Vergleich dar.Er betont nochmals,daß der Test am gleichen Gerät nur mit einer Schwankungsbreite von mindestens 10% reproduziert werden kann.
M.F.Schloss (30) teilt in seiner Arbeit "Vorsichtsmaßnahmen zur Verhütung von Serumhepatitis als Folge von Bluttransfusionen" 1957 mit,daß an seiner Blutbank der T-TT seit 1952 zur Kontrolle des Hepatitis-Virus genommen wird.Er betont dabei,daß es wichtig ist,den Probanden sechs Stunden lang vorher nichts essen zu lassen,da es sonst zu positiven Ausfällen,infolge fetthaltiger Nahrung kommen kann.Falls ein erhöhter Bilirubinspiegel des Serums bei normalem T-TT vorliegt,untersucht er das Serum seit 1956 mittels der Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT),da dieser Test weitaus leberspezifischer ist.
Maclagan sagt(19),daß der T-TT nicht als Leberfunktionstest betrachtet werden soll,sondern als Indikator eines gestör-

ten Leberstoffwechsels,da der T-TT nicht irgend eine bekannte Leberfunktion testet.Er fand bei Zirrhose in 100% und bei Hepatitis in 91% einen positiven Test.

II Hauptteil

a) Fragestellung

Im Rahmen des experimentellen Teiles meiner Untersuchungen prüfte ich folgende Fragen:

1) Hat die zu verschiedenen Zeitpunkten durchgeführte Splenektomie einen Einfluß auf eine experimentell durch TAA hervorgerufene Leberzirrhose bei Ratten?

2) Läßt sich die chronische Lebererkrankung mit Hilfe des T-TT erfassen und der Verlauf verfolgen?

3) Besteht eine Korrelation zwischen Trübungsintensität und histologischem Befund?

zu 1) Thioacetamid ist eine von verschiedenen Substanzen zur Konservierung von Zitrusfrüchten (zit.29).In der experimentellen Leberforschung wird es verwendet zur Erzeugung schwerer Zirrhosen.H.Hein (14)abeobachtete eine ausgeprägte Leberzirrhose durch Thioacetamid (TAA) nach Fütterung über 103 Tage an Ratten.Die Leber war derb,höckerig,graubraun,härter im Schnitt als normal.Die histologischen Bilder ähnelten der menschlichen atrophischen Zirrhose.
Sachs et al (29) bezeichnen TAA als ein epitheliotropes Lebergift,das Kerne und Protoplasma verändert.Am Anfang der Fütterung kommt es zu zentralen Nekrosen, Verfettung und Störung der Aktivität der alkalischen Phosphatase.Nach längerer Zeit fehlen diese Veränderungen weitgehend,dagegen kommt es dann zu einer Zunahme von Zell-,Kern- und Nukleolenschwellungen und einer Abnahme von Lipase und Glykogen.Die sich ausbildende Zirrhose soll der Laennec´schen Form des Menschen ähnlich sein.
Die Splenektomie im Rahmen einer Leberzirhose ändert zwar nach Streicher (35) die Grundkrankheit nicht,hat aber

prophylaktische Bedeutung hinsichtlich der Entstehung einer Zirrhose.Es kann zu einer Besserung des Krankheitsbildes kommen,wenn die Symptome einer Hypersplenie vorliegen.
Einige Autoren (2,8,11,12) vermuten heute,daß bei einem hohen Prozentsatz von splenomegaler Leberzirrhose immunologische Vorgänge im Vordergrund stehen,wobei die Milz aktiver Antikörperbildner ist.Die Splenektomie kann deshalb zu einer Besserung führen.

zu 2) Da der T-TT positive Resultate bei Serum-Eiweißverschiebungen,speziell bei Gamma-Globulin-Vermehrung,und etwas geringer auch bei Anstieg der Beta-Globuline und der Lipoidfraktionen gibt,ist bei Leberparenchymschäden mit einem positiven Ergebnis zu rechnen.Die zum Teil sich widersprechenden Angaben in der Literatur über die Brauchbarkeit dieses Testes,haben uns veranlaßt,seine Aussagefähigkeit zur Beurteilung der experimentellen chronischen Hepatitis und Zirrhose zu überprüfen.
Bei der Leberzirrhose kommt es zu einer Alpha-2-Globulinabnahme durch Mangel an Haptoglobin (3).
Die Beta-Globulin-Zunahme erklärt man sich vorwiegend durch Lipoproteide,die Gamma-Globulinvermehrung durch Proteide,die im Gegensatz zu den Befunden bei entzündlichen Prozessen relativ kohlehydratarm sind.(3)

zu 3) Nach klinischer Erfahrung besteht bei menschlicher Leberzirrhose nicht unbedingt eine Korrelation zwischen makroskopischem und histologischem Befund einerseits,und pathologischen Labilitätsproben andererseits (26,48).Es sind im Gegenteil alle Kombinationen von schwerer Erkrankung und starkem zirrhotischen Umbau mit negativen Testen,sowie umgekehrt beschrieben.

b) Methodik

Die Versuche wurden an 60 weißen,weiblichen Wistar-AF-Ratten durchgeführt,die zu Kollektiven von je 10 zusammengefaßt waren.Das Körpergewicht schwankte bei Versuchsbeginn um 230 Gramm.Alle Tiere erhielten zunächst Trockenfutter (Fa.Altromin,Lage-Lippe),das aus 22% Casein,64% Reisstärke DAB, 6,2% Sojaöl, 4%Zellulosepulver, 6% Mineralstoffe und 2% Vitaminvormischung bestand.
Am Vorabend jedes Versuches wurde allen Tieren aûßer der Kontrollgruppe das Futter entzogen,um keine durch nutritive Lipämie gestörten Ergebnisse zu erhalten.Jedem Tier wurde aus einer der vier Schwanzvenen,die nach Waschen des Schwanzes mit warmem Wasser deutlich hervortraten,ca 1-2 ccm Blut mit einer sterilen Einmalspritze und Einmalkanüle (Fa. Braun,Melsungen) entnommen.Die Tiere saßen bei der Blutentnahme in einem kleinen Käfig,aus dem nur der Schwanz hervorsah.Das Blut wurde sehr langsam aufgezogen,um es hämolysefrei zu gewinnen.Das so gewonnene Blut wurde in Reaktionsgefäße zum Mikrolitersystem Eppendorf umgefüllt und etwa zwei Stunden lang im Kühlschrank bei 4°C aufbewahrt. Um das Serum zu gewinnen,erfolgte danach 10 Minuten langes Zentrifugieren bei ca 3000 U/min.Mittels zweier Enzympipetten wurden je 0,1 ml Serum abpipettiert zur Durchführung des Thymol-Trübungstestes.

c) Technik des T-TT.

Der T-TT wurde nach Maclagan in der Modifikation von Reinhold (Merck,Darmstadt) durchgeführt.Die von ihm empfohlene Trishydroxy-Methyl-Aminomethan-Puferlösung soll sich durch besonders gute Haltbarkeit auszeichnen.Außerdem garantiert die alkoholische Thymol-Stammlösung einen exakt eingestellten Thymolgehalt.Beides bilden wichtige Voraussetzungen zur Standardisierung des Testes.

Reagentien:
1) Trishydroxymethylaminomethan
2) Thymol
3) Hydrazinsulfat
4) Hexamethylentetramin

Geräte:
1) Meßkolben verschiedener Größe
2) Pipetten verschiedener Größe (Enzym-, Vollpipetten)
3) Reagenzgläser
4) Photometer Eppendorf 1100
5) Küvetten, Schichtdicke 1 cm

Herstellung der Thymolpufferlösung:

Ein 1000 ml-Meßkolben wurde mit Bichromat-Schwefelsäure gefüllt,nach 24 Stunden entleert und gut mit Aqua dest. ausgespült.In dem Kolben wurde die gesamte Menge Trispufferstammlösung mit etwa 900 ml Aqua dest. verdünnt und dann die gesamte Menge alkoholische Thymolstammlösung zugesetzt.Der Kolben wurde so lange kräftig geschüttelt,bis die Lösung vollständig klar blieb und von den Innenwänden benetzungsfrei abfloß.Anschließend wurde das Meßgefäß mit Aqua dest. auf 1000 ml aufgefüllt und gründlich durchmischt.Dieses fertige Thymol-Reagens wurde verschlossen bei 20 bis 25°C aufbewahrt.Der pH betrug 7,55.

Herstellung der Formazalin-Standard-Lösung:

Der Inhalt zweier Flaschen,die Hydrazinsulfat und Hexamethylentetramin enthielten,wurde in einem 100 ml Meßkolben vermischt und blieb verschlossen bei Raumtemperatur 18 Stunden lang stehen.Anschließend wurde die trübe Mischung mit Aqua dest. auf 100 ml aufgefüllt.Diese so gewonnene Standardlösung entsprach 10 Maclagan Einheiten (ME).

Herstellung einer Eichkurve:

Zu Beginn der Messungen wurde aus dem Formazalin-Trübungsstandard nach Walther (48) eine Verdünnungsreihe hergestellt,die zur Aufnahme einer Eichkurve (vergl. S.24) mit dem Photometer diente,mit dem die Trübungen gemessen werden sollten.Die Extinctionen der Verdünnungen wurden gegen Aqua dest. gemessen,wobei die Meßküvette so weit der Lichtquelle genähert wurde,wie es die Küvettenhalterung erlaubte.Die Extinctionen (Ordinate) wurden gegen die ME (Abszisse) aufgetragen.
An Hand der so gewonnenen Eichkurve ließen sich die aus den Tierversuchen ermittelten Extinctionen in ME ablesen.

Ausführung des Testes:

In ein Reagenzglas wurde mit einer 0,1 ml Enzympipette (Fa. R. Brand,Wertheim) nüchtern gewonnenes hämolysefreies Serum, und mit einer Vollpipette 6,0 ml Thymolpufferlösung pipettiert.Dieses Gemisch blieb 30 min bei Zimmertemperatur stehen, wurde dann gut durchgeschüttelt,in eine Meßküvette von 1,0 cm Schichtdicke gefüllt und mit Licht der Wellenlänge 578 nm gegen eine Thymolpufferlösung im Photometer gemessen.Alle Messungen wurden durch Doppelbestimmungen kontrolliert.

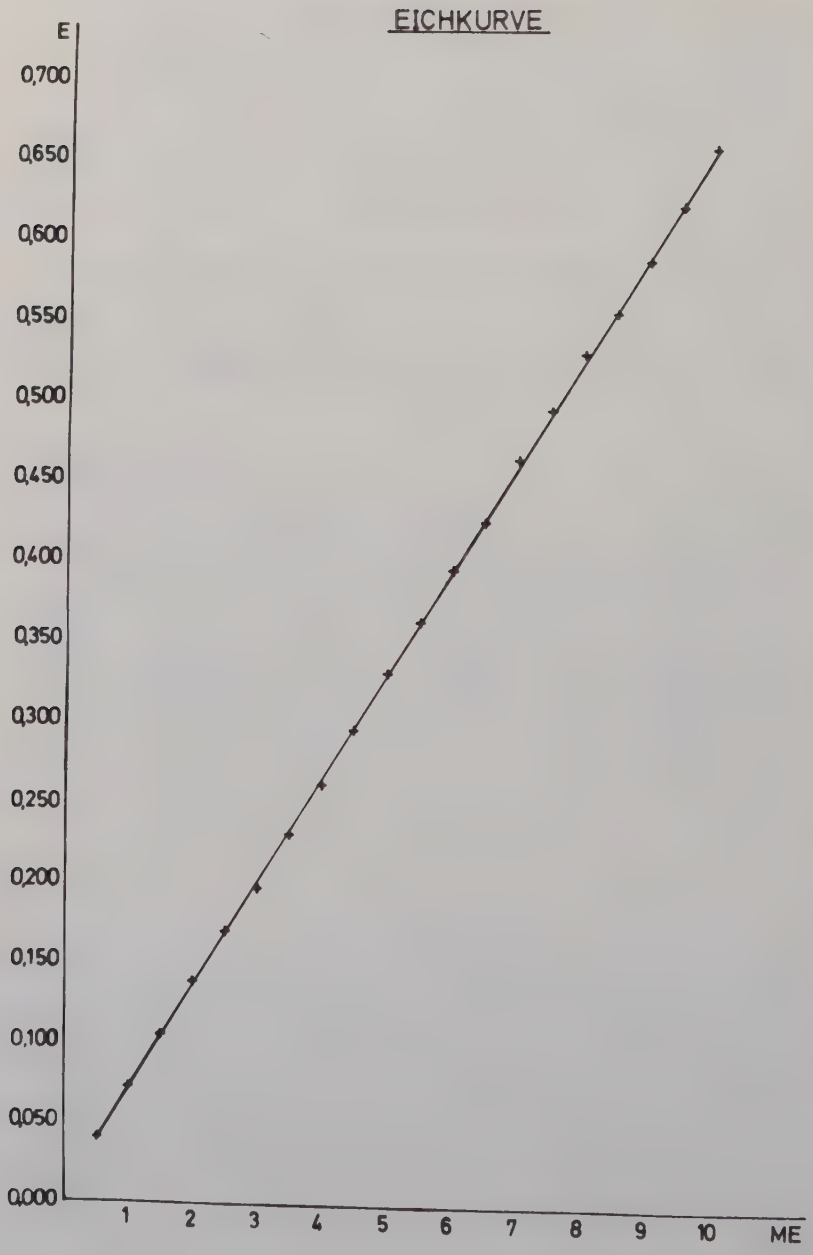
d) Versuche.

Wie aus der Versuchsanordnung (Abb. S.25) zu ersehen ist, wurde den Tieren fünf mal in Abständen von je vier Wochen Blut entnommen zur Durchführung des T-TT.Gleichzeitig wurde das Körpergewicht der Tiere bestimmt.Die Splenektomie der einzelnen Gruppen erfolgte zu verschiedenen Zeitpunkten. Bei Gruppe II und III sofort nach der Blutentnahme,aber zwei Tage vor Beginn der Fütterung mit TAA.Bei Gruppe IV erfolgte sie nach einem Monat,bei Gruppe V zwei Monate

nach Versuchsbeginn.Die zu operierenden Tiere wurden mit Äther betäubt.Vor dem Festschnallen auf einem kleinen Metalltisch wurden ihnen die Haare der linken Bauchseite rasiert.Nach Desinfektion der Haut mit Merfen erfolgte eine longitudinale Laparatomie im linken Oberbauch.Die Milz wurde nach Unterbindung von Arterie und Vene entfernt, und es erfolgte schichtweiser Verschluß der Bauchhöhle.Die Tiere erhielten am Operationstag Wasser und erst am nächsten Tag wieder TAA.

Außer normalem Trockenfutter erhielten die Kontrollgruppe und Gruppe II Wasser ad libitum.Die Gruppen I,III,IV und V erhielten TAA im Trinkwasser in einer Konzentration von 0,24 g pro Liter,entsprechend ca 14 mg/kg/Tag.Das TAA wurde bis zum Ende der Versuche gegeben.

Die histologischen Präparate wurden teils von den operierten Tieren gewonnen (d.h. von den Tieren,denen die Milz entfernt wurde),teils erfolgte Probeexcision der Leber, um den jeweiligen Stand der Leberentzündung kontrollieren zu können.Nach Ablauf von 16 Wochen erfolgte Tötung der Tiere.Lediglich je acht Tiere der Gruppen I und III blieben weiter am Leben,von denen je vier mit TAA und vier mit Wasser weitergefüttert wurden,um zu sehen,ob die Leberentzündung nach TAA-Absetzen zu einem Stillstand kommt,oder weiter fortschreitet.


EICHKURVE
E
0,700
0,650
0,600
0,550
0,500
0,450
0,400
0,350
0,300
0,250
0,200
0,150
0,100
0,050
0,000
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
ME

Versuchsanordnung

Gruppen a 10

Kontrollen	x		x	x	x	x	
I TAA	x	↑	x	x	x	x	
II Splenektomie	x▲		x	x	x	x	
III TAA und Splenekt. vor Versuchsbeg.	x▲	↑	x	x	x	x	
IV TAA und Splenekt. nach 1 Monat	x	↑	x▲	x	x	x	
V TAA und Splenekt. nach 2 Monaten	x	↑	x	x▲	x	x	
Versuchsbeginn	0		1	2	3	4	t

t = Zeit in Monaten
▲ = Splenektomie
x = Blutentnahme und Untersuchung
↑ = Beginn der Fütterung mit TAA

Die Splenektomie erfolgte bei den Gruppen II und III vor der Fütterung mit TAA.

e) Meßergebnisse des T-TT in Extinctionen.

Kontroll-Gruppe.

Tier	0 Wochen	4 Wochen	8 Wochen	12 Wochen	16 Wochen
1	0,020	0,028	0,023	0,041	0,032
2	0,021	0,030	0,035	0,042	0,044
3	0,020	0,026	0,019	0,043	0,055
4	0,021	0,034	0,044	0,055	0,098
5	0,022	0,024	0,035	0,055	0,055
6	0,022	0,030	0,034	0,035	0,042
7	0,015	0,024	0,021	0,036	0,040
8	0,025	0,036	0,035	0,040	0,046
9	0,020	0,030	0,036	0,035	0,047
10	0,028	0,036	0,051	0,052	0,041
α:	0,0214	0,0298	0,0333	0,0434	0,050
α:(ME)	0,33	0,46	0,514	0,67	0,77
σ:	±0,001076	0,00138	0,00327	0,00249	0,00809
σ:(ME)	±0,016	0,021	0,050	0,038	0,124

Gruppe I

Tier	0 Wochen	4 Wochen	8 Wochen	12 Wochen	16 Wochen
11	0,033	0,035	0,019	0,024	0,009
12	0,031	0,036	0,030	0,016	0,044
13	0,032	0,015	0,033	0,028	0,025
14	0,022	0,003	0,030	0,026	0,014
15	0,044	0,015	0,033	0,031	0,008
16	0,046	0,036	0,027	0,030	0,016
17	0,030	0,008	0,037	0,027	0,017
18	0,048	0,015	0,029	0,034	0,020
19	0,041	0,022	0,022	0,030	0,022
20	0,045	0,036	0,036	0,050	0,015
α:	0,0372	0,0221	0,0296	0,0296	0,019
α:(ME)	0,573	0,341	0,456	0,456	0,293
σ:	±0,00275	0,00403	0,00181	0,00274	0,00324
σ:(ME)	±0,0424	0,062	0,027	0,042	0,05

Gruppe II

Tier	0 Wochen	4 Wochen	8 Wochen	12 Wochen	16 Wochen
21	0,034	0,003	0,045	0,040	0,042
22	0,046	0,024	0,041	0,024	0,029
23	0,022	0,018	0,021	0,025	0,030
24	0,027	0,080	0,044	0,020	0,030
25	0,036	0,018	0,020	0,040	0,043
26	0,033	0,007	0,020	0,040	0,029
27	0,029	0,036	0,045	0,061	0,040
28	0,044	0,005	0,032	0,017	0,036
29	0,040	0,020	0,038	0,020	0,023
30	0,025	0,005	0,023	0,027	0,025
α:	0,0336	0,0216	0,0329	0,0314	0,0327
α:(ME)	0,518	0,333	0,507	0,484	0,504
σ:	±0,00252	0,00727	0,00347	0,00432	0,00224
σ:(ME)	±0,038	0,112	0,053	0,066	0,034

Gruppe III

Tier	0 Wochen	4 Wochen	8 Wochen	12 Wochen	16 Wochen
31	0,048	0,011	0,034	0,035	0,013
32	0,022	0,007	0,026	0,026	0,006
33	0,024	0,046	0,034	0,022	0,007
34	0,045	0,007	0,027	0,006	0,012
35	0,061	0,013	0,013	0,011	0,005
36	0,062	0,029	0,020	0,032	0,007
37	0,031	0,020	0,037	0,032	0,007
38	0,031	0,018	0,016	0,014	0,013
39	0,018	0,018	0,018	0,034	0,006
40	0,020	0,029	0,016	0,025	0,007
α:	0,0362	0,0198	0,0241	0,0237	0,0083
α:(ME)	0,558	0,305	0,372	0,365	0,128
σ:	±0,00526	0,00375	0,00275	0,00325	0,000978
σ:(ME)	±0,081	0,057	0,042	0,05	0,015

Gruppe IV

Tier	0 Wochen	4 Wochen	8 Wochen	12 Wochen	16 Wochen
41	0,039	0,061	0,042	0,022	0,012
42	0,033	0,013	0,023	0,037	0,006
43	0,037	0,025	0,020	0,005	0,004
44	0,028	0,082	0,054	0,013	0,008
45	0,049	0,032	0,041	0,005	0,017
46	0,046	0,015	0,026	0,014	0,014
47	0,030	0,044	0,024	0,013	0,009
48	0,020	0,015	0,015	0,010	0,010
49	0,017	0,045	0,039	0,013	0,010
50	0,024	0,036	0,038	0,015	0,005
α:	0,0323	0,0368	0,0322	0,0147	0,0095
α:(ME)	0,498	0,567	0,496	0,226	0,146
σ:	±0,00335	0,00704	0,00389	0,00292	0,00129
σ:(ME)	±0,051	0,108	0,06	0,045	0,019

Gruppe V

Tier	0 Wochen	4 Wochen	8 Wochen	12 Wochen	16 Wochen
51	0,019	0,066	0,032	0,025	0,009
52	0,038	0,025	0,044	0,025	0,016
53	0,028	0,015	0,035	0,018	0,002
54	0,025	0,020	0,032	0,003	0,002
55	0,036,	0,042	0,042	0,009	0,050
56	0,025	0,028	0,036	0,011	0,024
57	0,028	0,018	0,022	0,017	0,009
58	0,024	0,042	0,076	0,005	0,009
59	0,022	0,037	0,034	0,016	0,007
60	0,020	0,014	0,037	0,036	0,006
α:	0,0265	0,0307	0,039	0,0165	0,0134
α:(ME)	0,408	0,473	0,601	0,254	0,206
σ:	±0,00199	0,00406	0,00452	0,00321	0,00456
σ:(ME)	±0,03	0,062	0,069	0,049	0,07

f) Meßergebnisse der Gewichte in Gramm

Kontroll-Gruppe

Tier	0 Wochen	4 Wochen	8 Wochen	12 Wochen	16 Wochen
1	200	250	285	285	300
2	200	235	250	260	265
3	250	265	275	275	300
4	250	250	280	270	300
5	215	210	265	280	285
6	215	245	265	280	270
7	220	260	295	305	315
8	270	280	310	300	310
9	230	225	270	265	295
10	220	250	275	280	295
α:	227	247	277	280	293,5
σ:	±7,28	6,324	5,32	4,462	4,97

Gruppe I

Tier	0 Wochen	4 Wochen	8 Wochen	12 Wochen	16 Wochen
11	240	185	230	225	205
12	250	185	280	240	225
13	255	150	260	220	200
14	210	160	190	200	195
15	240	155	215	170	175
16	260	165	200	200	185
17	220	120	170	185	160
18	270	140	210	190	185
19	205	180	215	210	205
20	235	150	210	180	145
α:	238,5	159	218	202	188
σ:	±6,79	6,5	9,44	6,92	7,42

Gruppe II

Tier	0 Wochen	4 Wochen	8 Wochen	12 Wochen	16 Wochen
21	260	240	305	315	315
22	240	210	280	280	285
23	270	235	355	295	300
24	245	205	270	300	310
25	245	240	300	290	315
26	240	215	290	305	290
27	240	215	275	270	290
28	255	240	295	305	315
29	225	215	340	310	290
30	275	235	320	305	325
α:	249,5	225	303	297,5	303,5
σ:	±4,85	4,32	8,82	4,43	4,48

Gruppe III

Tier	0 Wochen	4 Wochen	8 Wochen	12 Wochen	16 Wochen
31	235	165	220	195	205
32	235	185	210	210	205
33	235	120	210	215	210
34	235	185	220	220	205
35	230	140	170	185	180
36	225	130	210	205	190
37	250	190	280	250	245
38	215	195	150	200	190
39	265	200	210	210	195
40	220	140	225	205	205
α:	234,5	165	220,5	209,5	203
σ:	± 4,56	9,45	11,2	5,5	5,54

Gruppe IV

Tier	0 Wochen	4 Wochen	8 Wochen	12 Wochen	16 Wochen
41	220	135	220	220	205
42	225	165	250	240	205
43	235	135	190	170	160
44	230	125	200	170	180
45	260	130	215	210	190
46	225	135	235	200	185
47	230	145	215	230	220
48	220	155	140	210	190
49.	240	145	235	205	205
50	240	180	235	245	205
α:	232,5	145	213,5	210	194,5
σ:	± 3,82	5,43	9,94	8,13	5,4

Gruppe V

Tier	0 Wochen	4 Wochen	8 Wochen	12 Wochen	16 Wochen
51	195	165	210	190	175
52	220	140	220	195	165
53	210	150	230	195	165
54	200	175	205	180	170
55	240	190	220	200	165
56	200	135	200	180	165
57	225	140	225	205	175
58	240	145	230	195	185
59	245	150	260	195	180
60	210	185	210	195	165
α:	218,5	157,5	221	193	171
σ:	± 5,78	6,29	5,41	2,53	2,33

g)Meßergebnisse des T-TT nach Ende der eigentlichen Versuche

Von den Gruppen I und III wurden je vier Tiere mit Wasser und je vier Tiere mit TAA nach Beendigung der eigentlichen Versuchsperiode weitergefüttert,um zu sehen,ob eine Anderung des bis dahin bestehenden Zustandes der Lebererkrankung eintrat. Besonders interessant war dabei die Frage,tritt nach viermonatiger Fütterung mit TAA und histologisch gesicherter Zirrhose eine weitere Verschlechterung des Zustandes bei weiterer TAA-Gabe ein,bzw.tritt nach plötzlichem Aufhören der TAA-Gabe und Umsetzen auf Wasser ein Stillstand oder sogar etwa eine Besserung der Lebererkrankung ein. Die Gruppe I wurde ausgewählt,weil sie ja nicht splenektomiert worden war und die Gruppe III,weil sie bereits vor Fütterungsbeginn die Milz entfernt bekommen hatte. Es standen sich somit die beiden extremsten Gruppen der Versuchsanordnung gegenüber.

T-TT

Tier	20 Wochen (mit Wasser)	Tier	20 Wochen (mit TAA)
14	0,01	13	0,009
16	0,042	12	0,012
18	0,016	11	0,002
17	0,014	15	0,002
α:	0,0205	α:	0,00625

Gewichte

Tier	20 Wochen (mit Wasser)	Tier	20 Wochen (mit TAA)
14	280	13	210
16	260	12	235
18	265	11	230
17	270	15	210
α:	268,75	α:	221,25

T-TT

Tier	20 Wochen (mit Wasser)	Tier	20 Wochen (mit TAA)
39	0,011	36	0,000
33	0,020	38	0,009
34	0,008	35	0,000
37	0,016	40	0,009
α:	0,01375	α:	0,0045

Gewichte

Tier	20 Wochen (mit Wasser)	Tier	20 Wochen (mit TAA)
39	285	36	225
33	275	38	235
34	290	35	150
37	280	40	220
α:	282,5	α:	205

Bedingt durch die geringe Anzahl von je vier Tieren erfolgte keine weitere statistische Auswertung. Histologisch ließ sich jedoch feststellen, daß bei allen weiter mit TAA gefütterten Tieren der zirrhotische Leberprozeß fortschritt, während sich bei den mit Wasser gefütterten Tieren keine Verschlechterung der Lebererkrankung erkennen ließ, sondern sogar die Zeichen der akuten Leberentzündung abgenommen hatten.

h) Auswertung der Kurven des T-TT

Die Tafeln auf Seite 33 zeigen die Kurven des T-TT ausgedrückt in ME (Maclagan-Einheiten), in Abhängigkeit von der Zeit in Monaten.
Zu jedem ausgezeichneten Wert wurde die Streuung vom Mittelwert (σ) aufgetragen.
Signifikant unterschiedlich zur Kontrollgruppe verhalten sich nur die nach dem dritten und dem vierten Monat gemessenen Werte der Gruppen I, III, IV und V. Entgegen den Erwartungen kommt es aber nicht zu einer verstärkten Trübungsintensität, sondern zu einem Abfall der Extinction und damit der ME. Ein Vergleich der Kurvenverläufe der verschiedenen Versuchsgruppen ergibt folgendes Bild:

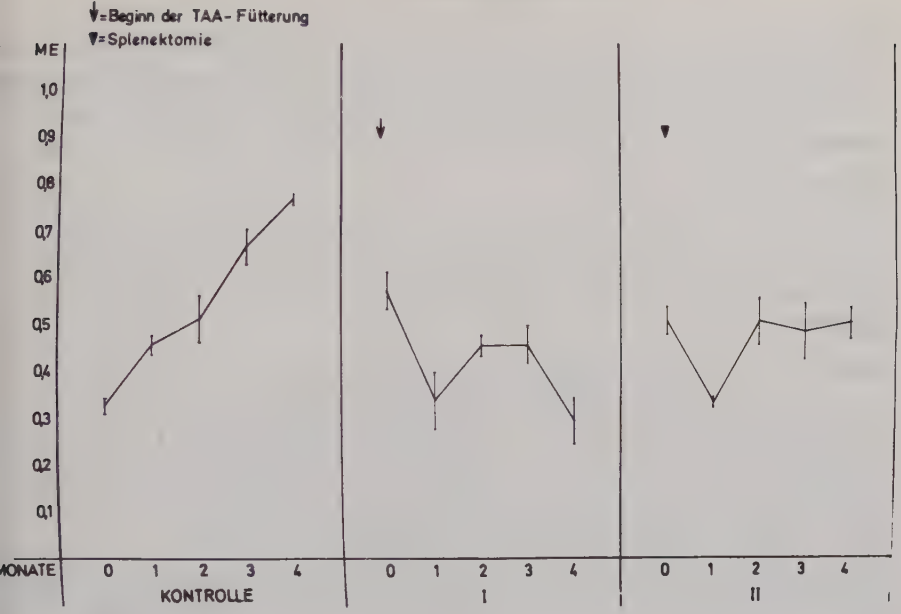
1) Alle mit TAA gefütterten Gruppen (I, III, IV, V) zeigen infolge geringer-werdender Trübung im Serum eine Abnahme der Extinction, die zum Ende der Versuche auf dem Minimum angelangt ist.

2) Gruppe II, die zu Beginn der Versuche splenektomiert wurde und dann nur Wasser erhielt, zeigt in der auf die Splenektomie folgenden Blutentnahme ebenfalls einen Extinctionsrückgang, kehrt dann aber zum Ausgangsniveau zurück.

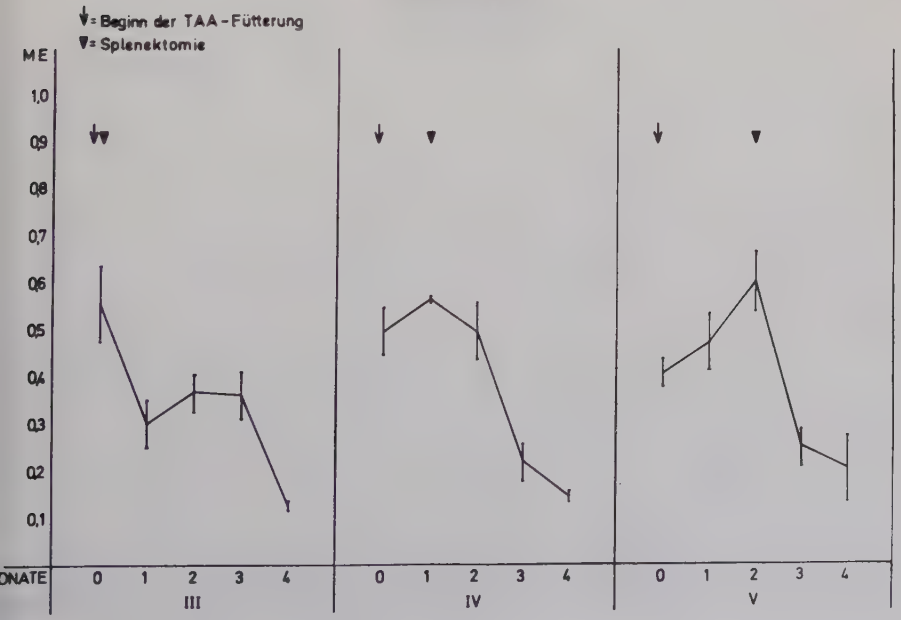
3) Die zu verschiedenen Zeitpunkten durchgeführte Splenektomie der Gruppen III, IV und V hat auf den Ausfall des T-TT keinerlei Einfluß. Gruppe III, die mit TAA gefütterte wurde und gleich zu Beginn splenektomiert wurde, verhält sich fast identisch mit Gruppe I, die nur TAA bekam. Bei den Gruppen IV und V erfolgte zwar die Wendung zum Abfall der Extinctionen erst nach der Splenektomie, aber das dürfte bei Vergleich der Kurvenverläufe von Gruppe I und III ein zufälliges Zusammentreffen sein.

4) Als einzige Gruppe zeigt die Kontrolle eine Zunahme der Trübungsintensität und somit einen Anstieg der ME.

KURVEN DES I-II



KURVEN DES I-II



i) Auswertung der Gewichts-Kurven

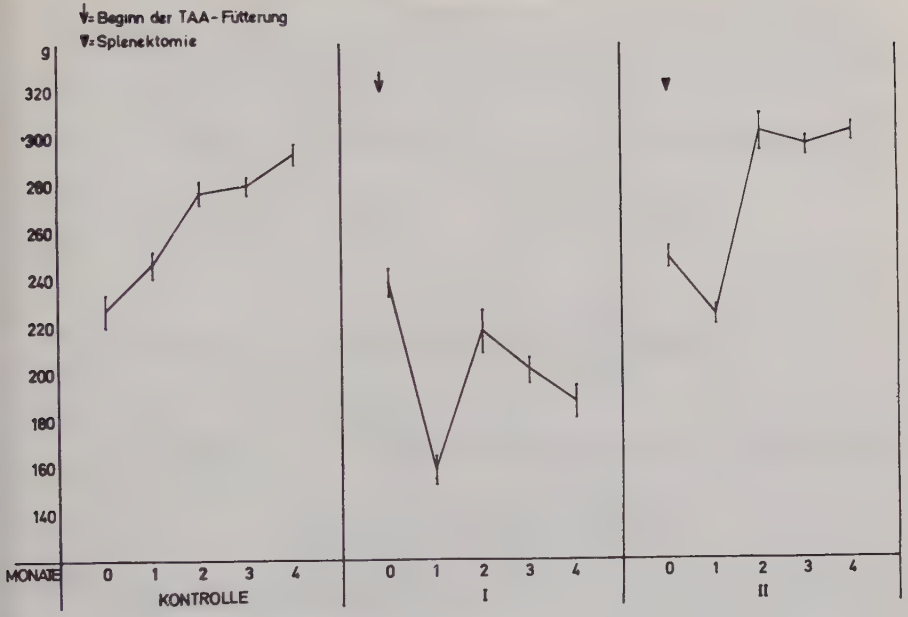
Die Kurven auf Seite 35 zeigen die Versuchsverläufe der Gewichtsbestimmungen der Versuchsgruppen zu den verschiedenen Zeitpunkten (Abszisse gleich Zeit in Monaten, Ordinate gleich Gewichte in Gramm). Zu jedem Wert wurde nach oben und unten die Streuung aufgetragen.

Die Gewichte der mit TAA gefütterten Gruppen (I, III, IV, V) zeigen zu Beginn einen starken Abfall. Danach erfolgt eine gewisse Erholung, um aber bis zum Ende der Versuche wieder stetig abzunehmen.

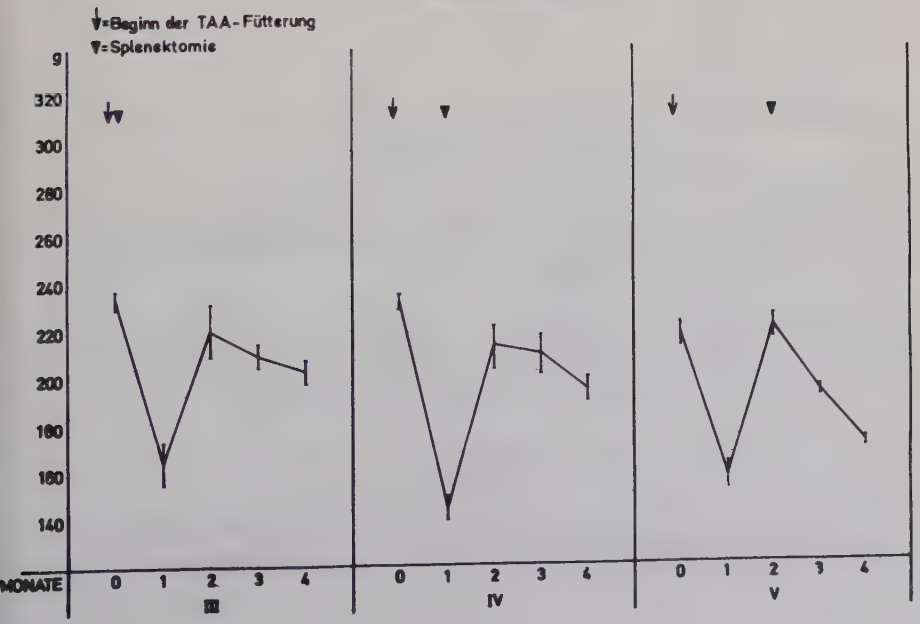
Gruppe II, zu Beginn splenektomiert, aber Fütterung mit Wasser, zeigt nach der Splenektomie Gewichtsverlust, nimmt jedoch wieder stark zu und bleibt dann auf gleichem Niveau. Auf die Gruppen, die mit TAA gefüttert wurden, hat die zusätzliche Splenektomie keinen Einfluß (III, IV, V), denn die Kurvenverläufe sind vergleichbar mit Gruppe I, die nur TAA erhielt.

Die Gewichte der Kontrolltiere nehmen ständig zu und sind gegen Ende der Versuche auf gleicher Höhe wie die der Gruppe II.

GEWICHTSKURVEN



GEWICHTSKURVEN



j) Statistische Auswertung

Die Berechnung der Durchschnitts-,Streuungs-und Signifikanzwerte erfolgte nach allgemeinen statistischen Regeln.

Formel zur Berechnung der Streuung eines Kollektivs:

$$I\sigma = \sqrt{\frac{\Sigma(x_1 - \alpha)^2}{(n - 1)}} \quad \text{(Streuung vom Mittelwert)}$$

$$II\sigma_m = \sqrt{\frac{\Sigma(x_1 - \alpha)}{n(n - 1)}} \quad \text{(Streuung vom Kollektiv)}$$

Berechnung des Signifikanzunterschiedes zweier Kollektive:

$$Q = \frac{\alpha_1 - \alpha_2}{\sqrt{\frac{\sigma_1^2}{n_2} + \frac{\sigma_2^2}{n_1}}}$$

Dieser Quotient wird an der Zufallsgrenze Z gemessen:

$$Z = 3 + \frac{10}{n_1 + n_2}$$

Q größer als Z = der Unterschied zweier Serien ist statistisch signifikant

Q gleich Z = der Unterschied zweier Werte liegt an der Grenze der Signifikanzwahrscheinlichkeit

Q kleiner als Z = mit der zu Grunde gelegten Signifikanzwahrscheinlichkeit läßt sich kein Unterschied der zwei Serien sichern.

Streuung

Die Streuung dient zur Beurteilung der Streuung von Einzelwerten um das arithmetische Mittel.--Sie (Standardabweichung,

Streuung) entspricht der Quadratwurzel aus der Summe der Quadrate der Abweichungen der Einzelwerte vom arithmetischen Mittel, dividiert durch die Zahl der Einzelwerte minus eins. Man wird zunächst die Differenzen zwischen den Einzelwerten und dem Durchschnitt bilden und diese Differenzen quadrieren. Die Quadratsummen werden addiert und durch die Zahl der Resultate minus eins dividiert.

Signifikanzberechnung für den T-TT

$$Z = 3 + \frac{10}{n_1 + n_2} = 3{,}5$$

$$Q = \frac{\alpha_1 - \alpha_2}{\sqrt{\frac{\sigma_1^2}{n_2} + \frac{\sigma_2^2}{n_1}}}$$

Gruppe I	Gruppe II	Gruppe III	Gruppe IV	Gruppe V
5,4	4,6	2,7	3,1	2,3
1,8	2,3	2,5	0,9	0,19
1,01	0,05	2,2	2,9	1,02
3,8	2,4	4,8	7,5	6,7
3,56	2,0	5,6	4,9	3,9

Signifikanzberechnung für die Gewichte

Gruppe I	Gruppe II	Gruppe III	Gruppe IV	Gruppe V
3,6	8,2	2,7	4,1	2,89
29,5	9,9	22,7	38,6	31,7
17,2	7,9	14,3	17,8	23,3
30,0	8,7	31,4	23,8	53,4
37,5	4,6	38,5	42,7	70,4

---

k) Histologische Ergebnisse

Makroskopische und mikroskopische Gewebsveränderungen der Leber

Sowohl makroskopisch wie mikroskopisch war die Leber bei den Tieren von Kontrollgruppe und Gruppe II ohne pathologische Befunde.

Die stärksten Leberveränderungen zeigten die Tiere der Gruppe I, die vier Monate lang mit TAA gefüttert wurden. Makroskopisch war die Leber derb, höckrig, graubraun, im Einschnitt hart. Histologisch fand sich ein ausgeprägter cirrhotischer Umbau mit lymphozytärer Infiltration der periportalen Felder, Wucherung der Sternzellen, Einbrüchen in die Grenzlamellen und Aufspaltung der Leberläppchen. Die regelrechte Leberstruktur war aufgehoben durch Ausbildung von Pseudoacini, das Bindegewebe war kernreich. Weiterhin sah man Gallengangswucherungen und Leberzellregenerate, klein-bis großtropfige Verfettungen von Leberzellbalken. Die Leberzellen differierten in ihren Größen und waren z.T. nur schwach anfärbbar.
Die Leber der Tiere von Gruppe III, die vor Fütterungsbeginn mit TAA splenektomiert waren, war makroskopisch gering vergrößert und verhärtet, mikroskopisch zeigten sich eine starke Erweiterung der Sinusoide und Zentralvenen, breite Oedemstraßen mit gering bis mäßig stark ausgeprägter Zellinfiltration und nur geringer Bindegewebsaktivität mit wenig Fibroblasten und nur vereinzelten kollagenen Fasern.

Die Gruppen IV und V, die zu späteren Zeitpunkten splenektomiert wurden, boten in etwas abgeschwächter Form das Bild der Gruppe I. Deutliche Bindegewebs-Vermehrung mit zellulärer Infiltration, zirrhotischem Umbau, mit Ausbildung von Pseudolobuli, starke Stauung der Zentralvenen, die z.T. auf die angrenzenden Kapillaren übergreift.

III Vergleichende Betrachtung der experimentellen Ergebnisse

Wenn man die drei Größen: Trübungsintensität,Gewichtsveränderung und histologischen Befund in Korrelation bringt,ergeben sich folgende Befunde:

1) Die Tiere der Kontrollgruppe,die am Ende der Versuche keinerlei pathologische Leberveränderungen aufweisen,nehmen stetig an Gewicht zu,und ihr Serum weist ständig zunehmende Trübungsintensität auf,was sicher als Zeichen einer Lipämie zu deuten ist,wie auch schon andere Autoren berichtet haben (30,31,45,zit.48).

2) Bei den Tieren der Gruppe II,ebenfalls ohne histologische Leberbefunde,kommt es nach der zu Beginn ausgeführten Splenektomie zu einem Gewichtssturz,und damit verbundener Extinktionsabnahme.Nach dem zweiten Monat steigen sowohl die Werte der Gewichte,als auch die der Extinktionen wieder an.Beides bleibt bis zum Ende konstant.

3) Bei Gruppe I mit den stärksten histologischen Veränderungen ist der anfänglich starke Gewichtssturz verbunden mit Abnahme der Trübung,um dann in beiden Größen wieder leicht anzusteigen.Bis zum Versuchsende nehmen allerdings Gewicht und Extinktion stetig ab.

4) Auch bei der Gruppe III ist das Phänomen zu beobachten, daß Gewichtsabnahme von Extinktionsrückgang und die geringe Gewichtszunahme nach dem zweiten Monat vonleichtem Extinktionsanstieg begleitet sind.
Dies entspräche den bei der Kontrollgruppe gemachten Beobachtungen,daß Lipämie für die Trübung verantwortlich ist. Gruppe IV und V machen zu einem Zeitpunkt,nämlich einen Monat nach Fütterungsbeginn eine Ausnahme von dieser Regel.Der anfängliche Gewichtssturz geht nicht mit Abnahme der Serumtrübung einher.Bei den letzten drei Bestimmungen trifft die oben aufgestellte Beobachtung aber wieder zu.

Die Splenektomie hat bei den mit TAA gefütterten Gruppen keinen Einfluß auf das Gewicht oder den Ausfall des T-TT. Lediglich bei Gruppe II, die nur splenektomiert wurde,zeigt sich nach dem operativen

Eingriff ein geringer Gewichtsverlust mit Abnahme der Extinctionen, später steigt jedoch beides wieder an.

Die experimentell gefundenen Werte lassen sich nur untereinander in Relation setzen. Absolut betrachtet und auf menschliche Verhältnisse bezogen, bewegen sich sämtliche Ergebnisse innerhalb oder unterhalb der Normalwerte von 1-3 ME.
Da bisher vergleichbare Werte in der mir zugänglichen Literatur über Ratten-Versuche nicht zu finden waren, liegt der Schluß nahe, daß entweder die Normalwerte einen anderen Bereich (Zahlen-) umfassen, oder der T-TT im Rattenversuch in dieser Form nicht brauchbar ist. Die Tatsache, daß bei allen Tieren, deren Leber histologisch stärkste cirrhotische Veränderungen aufweist, die Trübung am geringsten ist, kann für die Unbrauchbarkeit des T-TT sprechen. Bei einigen Tieren von Gruppe I und III, die noch vier Wochen länger mit TAA gefüttert wurden, zeigte das Serum im Vergleich zum Standard z.T. gar keine Trübung. Die Extinction betrug Null.

IV Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit der Frage, ob sich die Leberschädigung bei der durch Thioacetamid hervorgerufenen Leberzirrhose der Ratte mit Hilfe des Thymoltrübungstestes erfassen und der Verlauf der Erkrankung verfolgen läßt, und ob eine zu verschiedenen Zeitpunkten durchgeführte Splenektomie das Krankheitsbild beeinflußt und bestimmte Serumeigenschaften verändert.

60 weibliche Wistar-AF-Ratten wurden auf sechs Gruppen zu je 10 verteilt. Vier Gruppen erhielten TAA und wurden zum Teil splenektomiert, eine Gruppe wurde nur splenektomiert und eine diente als Kontrolle.

Die Arbeit umfaßt drei Abschnitte. Der erste Teil bringt die Ergebnisse des T-TT, der in vierwöchigem Abstand mit dem Rattenserum durchgeführt wurde. Bei den mit TAA gefütterten Gruppen zeigten sich signifikante Unterschiede zur Kontrollgruppe und zwar in der Art, daß sich die Trübungsintensität immer mehr verringert, je weiter das Krankheitsbild fortschreitet und im Gegensatz dazu, die Tiere der Kontrollgruppe eine zunehmende Trübung aufweisen. Die zu verschiedenen Zeitpunkten durchgeführte Splenektomie hat auf den Ausfall des T-TT keinen nachweisbaren Einfluß.

Im zweiten Teil wird das Verhalten der Rattengewichte unter dem Einfluß der TAA-Fütterung und Splenektomie dargestellt. Die mit TAA-gefütterten Tiere erleiden anfänglich einen Gewichtssturz, erholen sich kurz wieder, um dann kontinuierlich abzunehmen. Auch hier hat die Splenektomie keinerlei Einfluß. Die Tiere der Kontrollgruppe nehmen ständig an Gewicht zu, die der Gruppe II ebenfalls nach geringem anfänglichen Gewichtsverlust, offensichtlich bedingt durch die Operation.

Im dritten Teil werden die Ergebnisse des T-TT und das Gewichtsverhalten mit den histologischen Befunden in Beziehung gebracht. Je stärker der zirrhotische Umbau fortgeschritten war und je mehr die Tiere an Gewicht verloren hatten, um so geringer war die Trübungsintensität im T-TT. Tiere ohne pathologisch-histologischen Leberbefund nahmen ständig an Gewicht zu und ebenso stiegen die Extinctionswerte.

Die eingangs geschilderte Fragestellung muß deshalb dahingehend beantwortet werden, daß sich der T-TT nicht zur Erfassung und Beurteilung der experimentellen Leberzirrhose mittels TAA bei der Ratte eignet.

Literaturverzeichnis

1) Becker,V.; Walter,W.: Die Wirkung von Thioacetylverbindungen im Tierexperiment. Acta hepato-splen. 12,129,1965

2) Beickert,A.:Autoimmunologische Komplikationen bei der Virushepatitis. Arztl.Wschr. 1957,939-944

3) Berg,G.: Labilitätsbefunde und Serumelektrophorese in der Differentialdiagnostik inn. Krkht.--- Therapiewoche,Band 16,Heft 14,457-458,1966

4) Brodehl,J.:TAA in der experimentellen Leberforschung. Klin. Wschr. 39,Nr.18,956-962,1961

5) Brühl,W.: Leber-und Gallenwegserkrankungen.Georg-Thieme-Verlag,1966,247 S.

6) Christie,J.H.;Macintyre,W.J.;Crespo,G.G.;Koch-Weser,D.: Radioisotope scanning in hepatic cirrhosis. Radiology 81,455-469,1963

7) Discombe,G.:Flocculation tests.--The lancet,1959,1005-1008

8) Duesberg,R.:Indikationen zur Splenektomie.Langenbecks Arch. klin. Chir. 313,198-202,1965

9) Egert,H.;Höfer,R.;Neumayr,A.:Untersuchungen des Albuminumsatzes bei Leberkrankheiten.DMW,40.Jhg., Heft 3,1962,134-137

10) Führ,J.: Der Thymol-Trübungs-Test in der Modifikation nach Reinhold.--Med. Mschr.Heft 4,1965,184-186

11) Gelin,G.: Bantisyndrom und Bantikrankheit.V.Kongr.Europ. Hämatol. Ges. Freiburg 1955,Springer Heidelberg 1956,302-314

12) Glagov,S.;Kent,G.;Popper,H.:Relation of splenic and lymph nodes changes to hypergammaglobulinaemia in cirrhosis.Arch.Pathol. 67 (1957),9-18

13) Hartung,H.;Streicher,H.J.;Diamantopoulou,A.: Die Wirkung der Splenektomie auf die TAA-Zirrhose der Rattenleber.Lang.Arch.klin.Chir. 316,501-504,1966

14) Hein,H.: Biologische Wirkungen eines Kulturextractes aus Bacillus subtilis.Arzneimittelforschung 6,206-208,1956.Editio Cantor:Aulendorf i. Würtemberg.

15) Hallmann,L.:Klinische Chemie und Mikroskopie.Georg-Thieme-Verlag,Stuttgart,10. Auflage,1966

16) Herlyn,K.-E.:Die portale Hypertension vom chirg.Standpunkt. Klin.Med. 12,530-539,1957

17) Huerga,J.de la;Popper,H.: Standardized reagent for thymol turbidity test.---J.Lab.Clin.Med. 34,1949, 877

18) Lindner,H.:Die Bedeutung der Serumlabilitätsproben in der modernen Leberdiagnostik.DMW,Nr.6,1966, 267-268

19) Maclagan,N.F.:The thymol turbidity test as an indicator of liver dysfunction.--Brit.J.Exper.Path. 25:234/1944

20) Magnenat,P.;Delaloye,B.:La scintigraphie du foie et de la rate dans la cirrhose.--Bull.schweiz. Akad.med. Wiss. 19,20-35,1963

21) Mateer,J.G.;Baltz,J.I.;Steele,H.H.;Brouwer,St.W.;Colvert, J.R.:Chronic subclinical impairment of the liver.J.A.M.A. Nr.13,Volume 133,1947,909

22) Mayr,A.;Baldt,R.:Neue Erkenntnisse zum T-TT.-Wiener Kli-Wo,1968,21,409-411

23) Morrison,L.M.;Hoyt,R.E.;Rosenthal,M.;Levine,M.G.; Holeman,R.:Anicteric hepatitis.Studies for four epidemics.---Arch.environm. Hlth 4,538-546,1962

24) Nagler,W.;Bender,M.A.;Blau,M.:Radioisotope photoscanning of the liver.Gastroenterology 44,36-43,1963

25) Oppermann,A.:Erfahrungen mit dem Thymoltest.--DMW 27/28, 1949,852-854

26) Oppermann,A.:Beitrag zur Frage der Grundlagen positiver Thymoltrübungen im Serum.--DMW 33/34,1950, 1063-1065

27) Patel,J.;Leger,L.;Ferron,A.de : Problemes therapeutiques posés par la reprise des hemorragies digestives après splenectomie pour syndrome de Banti.--J.de Chir. 74,437-458,1957

28) Sachs,H.;Bäumer,A.;Menkhaus,G.:Experimentelle Vergiftung mit TAA.--Angewandte Chemie,69.Jhg.,1957

29) Sachs,H.W.;Baumer,A.;Menkhaus,G.:Histochemische Untersuchungen zur Giftwirkung des TAA auf die Rattenleber.--Acta hepato-splen.6,1959,286

30) Schloss,M.F.:Vorsichtsmaßnahmen zur Verhütung von Serumhepatitis als Folge von Bluttransfusionen Das arztl.Laboratorium 3,1957:259

31) Schoen,R.;Südhoff,H.:Biochemische Befunde in der DD innerer Krankheiten.--Georg-Thieme-Verlag 1965,587 S.

32) Schreiber,H.W.:Zur hämodynamischen,hämatologischen und der den Stoffwechsel betreffenden Funktion der Milz aus chirurgischer Sicht.--Hippokrates 33,610-615,1962

33) Schumacher,W.:Die Leberdiagnostik mit radioaktiven Substanzen.--Radiologe 5,357-372,1965

34) Schumacher,W.:Die Diagnostik von Leber-und Gallenwegserkrankungen,einschließlich der Tumoren mit Hilfe radioaktiv markierter Verbindungen. DMW 87,347-352,1962

35) Streicher,H.J.: Indikationen und Ergebnisse der Milzexstirpation bei Splenomegalien.--Langenb. Arch. klin.Chir. und Dtsch.Z.Chir.283,671-682, 1957

36) Streicher,H.J.: Pathophysiologische Grundlagen der Splenektomie. Langb. Arch. klin. Chir.289, 614-618,1958

37) Streicher,H.J.: Chirurgie der Milz.Ihre pathophysiologische Grundlagen und ihre Ergebnisse. Ergebn. Chir.Orthop. 42,392-568,1959

38) Streicher,H.J.;Herion,W.: Hat die experimentelle Splenektomie einen Einfluß auf die Wundheilung und Transplantation?--Langb. Arch.klin.Chir. 292,302-305,1959

39) Streicher,H.J.: Die Operationsindikation bei hepato-lienalen Krankheiten.--Chir. Prax. 1960, 409-414

40) Streicher,H.J.: Experimentelle Splenektomie in ihrer Wirkung auf Ery-Regeneration,Leukocyten-Regulation und Blutungsschock.--Langb. Arch.klin.Chir. 293,245-321,1960

41) Streicher,H.J.: Entwicklung und heutiger Stand der Milzchirurgie.--Med.Welt 1960,2643-2648

42) Streicher,H.J.: Was ist Hypersplenismus?--Langb.Arch. klin.Chir. 295,378-383,1960

43) Streicher,H.J.: Die Operationsindikation bei hepatolienalen Krankheiten.--Intern. Prax. 2,53-58,1962

44) Thaler,H.: Die DD des Icterus.--Dtsch.med.J. 17, 363-369,1966

45) Thiele,O.W.;Voegt,H.: Der Thymoltrübungstest nach Maclagan beim Diabetes mellitus. DMW 1955,15

46) Tilsner,V.: Mitteilung über eine verbesserte Methode des T-TT durch Verwendung von Tris-hydroxy-methyl-aminomethan als Puffer.--Ärztl.Laboratorium, Heft 5,1964,149-152

47) Viranuvatti,V.;Harinusuta,T.;Plengvanit,U.;Choungchareon, P.;Viranuvatti,V.:Liver function test in hepatic amebiasis,based on 274 clinical cases.--Amer.J.Gastroent.39,345-361,1963

48) Walther,J.: Die photometrische Auswertung des T-TT. Ärztl.Forschung,1957,Heft 10,517-520

49) Walther,J.: Zur Problematik der photometrischen Bestimmung des T-TT.Ärztl. Forschung,14,1960: 36

50) Wachter,H.;Gabl,F.:Neue Gesichtspunkte zum Mechanismus der Thymoltrübungsreaktion und ihre Standardisierung.-Protides of the Biological Fluids,Proc. of the 8 th Colloquium,Bruges, 1960 --pp 98-102

51) Wachter,H.;Gabl,F.: Kritische Betrachtungen zum T-TT und Vorschläge zu seiner einheitlichen Standardisierung.--Ärztl. Laboratorium,Heft6, Juni1961,165-174

52) Weinreich,J.:Milz und Leber in ihrem Einfluß auf das Blutbild.Untersuchungsergebnisse zum Problem des Hypersplenismus.--Acta-hepato-splen. 10,81-90,1963

53) Zenker,R.;Berchthold,R.:Die Bedeutung der Korrelations-diagnostik in der Chirurgie der Milz und Leber. Med.Klin. 56,505-507,1961

54) Ziliotto,D.: Epatografia e studio della funzionalità epatica per mezzo del rosa bengale con r^{131} . Minerva nucleare 3,144-148,1959

55) Zwicker,M.: Milzexstirpation bei hämolytischen und splenopathischen Erkrankungen.--Langb.Arch. klin.Chir. 295,332-344,1960

56) Zwicker,M.: Milzexstirpation bei splenopathischer Markhemmung.-Bruns Beitr.klin.Chir. 201,132-146,1960

57) Zwicker,M.: Splenektomie bei hämolytischen Erkrankungen. Dtsch. med. J. 11,592-595,1960

Ich danke Herrn Professor Dr. med. H.J. Streicher für die Überlassung des Themas, die Korrektur der Arbeit und die Abfassung des Referates und Herrn
für das freundlicherweise übernommene Correferat.

Mein besonderer Dank gilt auch Herrn Dr.med.H.Hartung, der mir bei der Durchführung der Untersuchungen und bei der Abfassung des histologischen Teiles der Arbeit beratend zur Seite stand.

Lebenslauf

Am 27. Juni 1942 wurde ich in Bad Elster geboren.

1949 begann ich im Alter von sechs Jahren mein erstes Volksschuljahr in Stederdorf/Peine; 1953 kam ich in die Sexta des Mädchengymnasiums nach Peine, wo ich im Frühjahr 1962 das Abitur bestand. Zum Sommersemester 1962 begann ich in Mainz das Studium der Medizin. Dort legte ich im Frühjahr 1963 die naturwissentschaftliche und im Herbst 1964 die ärztliche Vorprüfung ab. Im 7. Semester studierte ich in Würzburg. Zum Wintersemester 1965/66 wechselte ich nach Marburg, wo ich am 18. Juli 1968 das medizinische Staatsexamen bestand.

Meine akademischen Lehrer waren die Herren Professoren und Dozenten:

in Mainz: Abel, Berthold, Borneff, Bredt, Dabelow, Dörr, Ehrenbrand, Ewert, Franzen, Haas, Höhn, Kern, Klages, Komant, Kuschinsky, Lang, Laven, Leicher, Mislin, Neeb, Oppel, Overzier, Rathgen, Rhode, Schiffer, Schrieven, Straßmann, Thews, Thomsen, Watzka, Wellek.

in Würzburg: Bonse, Braun, Dubranszky, Franke, Henschler, Klutsch, Kuschke, Naujoks, Neumann, Schröder, Schwalm, Ströder, Viehweger, Wachsmuth, Wollheim, Wüstenfeldt.

in Marburg: Bommer, Buchholz, Dittrich, Dölle, Exner, Ganz, Gedigk, Hamm, Hardewig, Hess, Jacob, Korb, Knauff, Lang, Lehmann-Grube, Linneweh, Löhr, Lübbers, Mann, Martini, Marx, Nocke, Oehme, Oehmig, Petzold, Poltschke, Rodeck, Sauer, Schermuly, Schmidt, Schwaiger, Schneider, Schiff, Schleyer, Schlosser, Schrappe, Straub, Siegert, Siess, Staib, Streicher, Strohmeyer, Teller, Werner.